

Т.Н.Боковикова, Е.П.Герникова,  
О.А.Ваганова, Л.Н.Буланова,  
В.Е.Чичиро, М.Т.Абидов

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ НОВОГО ПРЕПАРАТА «ГАЛАВИТ»

Государственный научно-исследовательский институт по стандартизации и контролю лекарственных средств МЗ РФ, ЗАО «Центр современной медицины «Медикор», Москва

Разработаны методики анализа и стандартизации нового препарата «Галавит», представляющего собой 5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевую соль и применяемого в качестве иммуномодулирующего лекарственного средства.

Подлинность устанавливается по цветным реакциям, по ИК и УФ спектрам (в области от 200 до 400 нм максимумы поглощения при  $222 \pm 2$  нм,  $294 \pm 2$  нм,  $347 \pm 2$  нм, минимумы при  $260 \pm 2$  нм и  $320 \pm 2$  нм, растворитель 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной).

Количественное определение - методом нитритометрического титрования. Выбраны условия для оценки качества препарата по показателям «Цветность», «Прозрачность», «Сульфаты», «Хлориды».

Разработанные методики позволяют объективно оценивать качество препарата.

Настоящее сообщение посвящено совершенствованию методов анализа и стандартизации нового препарата «Галавит».

Галавит - оригинальный отечественный препарат представляет собой 5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-фталазин-1,4-диона натриевую соль, получен по оригинальной технологии ЗАО "Центр современной медицины "Медикор".

Галавит - модулятор функции макрофагов оказывает противовоспалительный эффект и используется в лечении заболеваний, вызванных гиперактивностью макрофагов. Эффективность противовоспалительной терапии обусловлена способностью препарата уменьшать синтез TNF - фактора, ИН - 1

и других острофазных белков из гиперактивированных макрофагов. Это достигается путем ингибирования синтеза РНК, ДНК ( на 6 - 8 часов ) и одновременным усилением микробицидной системы гранулоцитов, что предотвращает развитие патологического процесса [1,2].

При проведении государственного контроля галавита было установлено, что некоторые методики, включенные в нормативный документ (НД), недостаточно совершенны и не позволяют объективно оценивать качество препарата.

На основании приведенных исследований разработаны и предложены более совершенные методики анализа препарата «Галавит».

### Экспериментальная часть

#### *Определение подлинности*

Исходя из структуры молекулы галавита подлинность препарата рекомендовано устанавливать на базе функционального анализа - по реакции хемилюминесценции, по образованию азокрасителя и по УФ и ИК спектрам.

Для производных 1,2,3,4-дигидрофталазиндиона, имеющих заместители в положении 2 и 3, характерна хемилюминесценция, которая возникает в процессе их окисления слабыми окислителями в щелочной среде. Экспериментально установлено, что голубая хемилюминесценция, возникающая при взаимодействии галавита с пергидролем в щелочной среде в присутствии калия ферроцианида (II) в качестве катализатора, более четко наблюдается при использовании 5% раствора [5], а не 10%, как указано в НД. Наличие в структуре молекулы галавита аминогруппы в 5-м положении позволяет идентифицировать его по образованию азокрасителя при взаимодействии препарата с раствором натрия нитрита и  $\beta$ -нафтола в щелочной среде. Следует отметить, что УФ спектр 0,001% раствора препарата в 0,1 М растворе натрия гидроксида в условиях, описанных в НД, нельзя считать достаточно информативным, поскольку максимум поглощения при  $220 \pm 2$  нм в области от 200 до 260 нм характерен для многих органических соединений.

Для уточнения спектральных характеристик галавита в УФ области были сняты УФ спектры препарата в различных растворителях: воде, 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной (второе разведение), в 0,1 М растворе натрия гидроксида и в спирте 95% в концентрации 20 мкг/мл. УФ спектры галавита в области от 200 до 400 нм представлены на рисунке, из которого видно, что УФ спектры в воде и 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной практически совпадают и имеют максимумы поглощения при  $222 \pm 2$  нм,  $297 \pm 2$  нм ( $294 \pm 2$  нм) и  $347 \pm 2$  нм, минимумы при  $260 \pm 2$  нм и  $320 \pm 2$  нм. УФ спектр в 0,1 М растворе натрия гидроксида имеет максимумы поглощения при  $222 \pm 2$  нм,  $302 \pm 2$  нм,  $347 \pm 2$  нм и минимумы при  $258 \pm 2$  нм и  $323 \pm 2$  нм, т.е. наблюдается незначительный bathochromный сдвиг с одновременным гиперхромным эффектом. УФ спектр галавита в спирте 95% имеет максимумы поглощения при  $298 \pm 2$  нм,  $356 \pm 2$  нм и минимумы при  $264 \pm 2$  и  $324 \pm 2$  нм, т.е. наблюдается более выраженный по сравнению с щелочным раствором bathochromный сдвиг с одновременным гиперхромным эффектом. Из полученных данных следует, что в указанных растворителях для галавита характерны и информативны УФ спектры в области от 220 до 400 нм, которые могут быть использованы для идентификации и его количественного определения в лекарственных формах.

ИК спектр препарата отличается от ИК спектра основания, выделенного с помощью уксусной кислоты по методике НД, только двумя дополнительными полосами при 1550 и 1525  $\text{см}^{-1}$ . Указанный спектр является также информативным и может быть использован для подтверждения подлинности галавита, что позволит исключить дополнительные операции, связанные с осаждением и высушиванием основания - 5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-фалазин-1,4-дион.

#### *Цветность раствора*

Экспериментально установлено, что 1% растворы образцов исследованных серий галавита выдерживали сравнение с эталоном цветности 56, а не 76, что

подтверждает несоответствие требований к качеству препарата, включенных в разделы «Описание» и «Цветность раствора». По НД галавит должен быть «белый или слегка желтоватого цвета кристаллический порошок», т.е. допускается две цветовые характеристики препарата - белый или слегка желтоватый цвет. Последнее согласуется с характеристикой основания [7]. В разделе «Цветность раствора» указано, что раствор препарата должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном 76. Совершенно очевидно, что такие требования могут относиться к препарату белого цвета, имеющего оттенок, а не к препарату, который имеет собственную окраску. Поэтому правомочным является требование - 1% раствор препарата должен выдерживать сравнение с эталоном 56.

#### *Примеси сульфатов и хлоридов*

При определении примесей сульфатов в препарате по НД пробу сжигают в тигле, зольный остаток прокаливают в течение 1 часа при  $900^{\circ}\text{C}$ . Из данных литературы известно, что фарфоровые тигли непригодны для сжигания и прокаливания натрийорганических соединений [3]. Платиновые тигли устойчивы по отношению к натрийорганическим соединениям в присутствии кислорода воздуха при прокаливании в течение 10 - 30 мин при температуре  $500\text{--}550^{\circ}\text{C}$  [3,4].

Экспериментально установлено, что при прокаливании пробы галавита в платиновых тиглях в условиях, описанных в НД, на стенках тигля образуется твердый темный налет, который практически невозможно полностью отделить от тигля. Остаток в тигле обрабатывали водой. Полученный раствор испытывали на содержание в нем сульфатов [5]. При добавлении раствора хлорида бария в испытуемых пробах всех образцов препарата наблюдалось значительное помутнение растворов с последующим выделением осадка. Это обстоятельство можно отнести за счет свойств галавита, как натрийорганического соединения, подвергнувшегося прокаливанию при температуре  $900^{\circ}\text{C}$  в течение 1 часа.

Определение сульфатов в галавите по аналогии с другими натрий-органическими субстанциями (этазол-натрий, тиопентал-натрий и др.) можно проводить в фильтрате, полученном после отделения осадка, образующегося при прибавлении уксусной, серной, хлористоводородной или азотной кислот. Азотная кислота в данном случае более приемлема, т.к. в дальнейшем в полученном фильтрате можно определять и примеси хлоридов. Правильность выбранного способа была подтверждена двумя альтернативными методами: методом озоления - пробу сжигали в платиновом тигле в течение 20 минут при температуре 500° С [4] и методом сжигания в кислороде [5]. Образцы исследуемых серий препарата содержали менее 0,04% примесей хлоридов и менее 0,2 % примесей сульфатов, что в 5 раз ниже допустимых норм, указанных в НД - не более 0,2% и не более 1 % соответственно.

#### *Количественное определение*

Количественное определение галавита в препарате по НД проводится методом титрования в среде неводных растворителей. При этом возникали сложности в определении изменения окраски индикатора в точке эквивалентности, что влияет на воспроизводимость, а следовательно и на объективную оценку результатов анализа. В поисках метода более совершенного и не связанного с использованием агрессивных веществ, были проведены исследования, которые показали возможность применения ме-

тода нитритометрического титрования в выбранных условиях [5] :

- навеску препарата растворяют в воде, прибавляют разведенную кислоту хлористоводородную до растворения осадка, образовавшегося от прибавления к испытуемому раствору первых порций кислоты;

- точку эквивалентности определяют потенциометрически;

- в качестве индикаторного электрода применяют платиновый электрод, в качестве электрода сравнения - хлорсеребряный.

Определить точку эквивалентности с помощью внутреннего или внешнего индикаторов не представилось возможным, поскольку при добавлении к испытуемой пробе первых порций титранта - 0,1 М раствора нитрита натрия - возникало интенсивное оранжевое окрашивание, которое мешало определению изменения окраски индикаторов.

Сравнительные данные результатов количественного определения галавита двумя методами - титрование в среде неводных растворителей и нитритометрия приведены в таблице.

### **ВЫВОДЫ**

Изучены УФ спектры галавита в воде, спирте 95%, 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной и 0,1 М растворе натрия гидроксида. Установлено, что в области от 220 до 400 нм УФ спектры характерны, информативны и могут быть использованы для подтверждения подлинности и количе-

#### **Таблица**

**Сравнительные данные количественного определения галавита двумя методами.**

Серии препарата	Метрологические характеристики, n=6									
	Неводное титрование					Нитритометрия				
	X	Sx	X±Δ X	E%	E%	X	Sx	X±Δ X	E%	E%
011197	99,56	0,43	1,09	1,10	0,45	99,26	0,19	0,48	0,48	0,20
021197	100,24	0,35	0,91	0,91	0,37	99,67	0,18	0,50	0,51	0,23
031197	100,28	0,18	0,51	0,51	0,23	99,64	0,15	0,93	0,93	0,38
041197	99,74	0,42	1,09	1,09	0,45	99,71	0,21	0,54	0,55	0,22
051197	100,04	0,53	1,36	1,36	0,55	99,37	0,68	1,65	1,66	0,62

ственного определения (в лекарственных формах) галавита.

Для подтверждения подлинности препарата показана целесообразность использования ИК-спектра галавита (натриевая соль), что позволит исключить операцию выделения основания (5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофалазина-1,4-ди-она), предусмотренную НД.

Усовершенствована методика анализа галавита по показателям «Сульфаты» и «Хлориды», позволяющая объективно оценивать качество препарата, уменьшив в 5 раз допустимые нормы содержания указанных примесей.

Уточнены требования к качеству галавита по показателю «Цветность раствора».

Разработана методика количественного определения галавита с помощью нитритометрического титрования, которая позволяет получать объективные и воспроизводимые результаты (табл.), а также исключить использование агрессивных растворителей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абидов М.Т., Пальцев А.П., Турьянов М.А. //Патент России № 008349 от 20.04.96. / "Способ моделирования грамположительного стафилококкового сепсиса".
2. Абидов М.Т., Хохлов А.П. //Патент России № 008364 от 20.04.96. "Способ моделирования грамотрицательного сальмонеллезного сепсиса".
3. Бермандинер М.Н., Шурыгин А.П. // Огневая переработка и обезвреживание промышленных отходов. - М., Химия, - 1990 г. - С.149.
4. Бок Р. //Методы разложения в аналитической химии. - М., Химия, -1984г.-С. 114,146.
5. Государственная фармакопея XI издания, выпуск 1 и 2.
6. Красовицкий Б.М, Болотин Б.М. // Органические люминофоры. - М., Химия, - 1984 г.- С.141
7. Химическая энциклопедия // Люминол. - ДАФ-МЕД. - М., Советская энциклопедия - 1990г.- т.2. - С.1224.